

## Рекомендации к составлению нормативной документации на иммунобиологические лекарственные препараты в части физико-химических показателей качества

О.Б. Устинникова, О.Б. Рунова, Е.В. Величко

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

**Резюме:** В настоящих рекомендациях отражены особенности лабораторной экспертизы и экспертизы нормативной документации. Рекомендации содержат информацию об основных принципах изложения методик оценки качества. Приведена общая схема изложения разделов нормативной документации с подробным описанием структуры подразделов, рассмотрены особенности изложения методик оценки физико-химических показателей качества иммунобиологических лекарственных препаратов, указаны типичные ошибки, допускаемые при составлении нормативной документации.

**Ключевые слова:** иммунобиологические лекарственные препараты; лабораторная экспертиза; физико-химические показатели; нормативная документация; изложение методик.

**Библиографическое описание:** Устинникова О.Б., Рунова О.Б., Величко Е.В. Рекомендации к составлению нормативной документации на иммунобиологические лекарственные препараты в части физико-химических показателей качества. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2015; (3): 8–12.

### RECOMMENDATIONS FOR DRAFTING REGULATORY DOCUMENTS ON IMMUNOBIOLOGICALS PARTICULARLY THE SECTION ON PHYSICOCHEMICAL QUALITY CHARACTERISTICS

O.B. Ustinnikova, O.B. Runova, E.V. Velichko

Federal State Budgetary Institution  
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

**Abstract:** These recommendations present the specifics of laboratory testing and examination of regulatory documents. The recommendations include information about the basic principles of presentation of the quality assessment methods. The paper demonstrates the following: a general presentation scheme of regulatory documents sections with a detailed description of subsections structure, the peculiarities of presentation of the methods for evaluation of physicochemical quality characteristics of immunobiologicals and the typical mistakes made in the process of drafting regulatory documents.

**Key words:** immunobiological medicines; laboratory testing; physicochemical quality characteristics; regulatory documentation; presentation techniques.

**Bibliographic description:** Ustinnikova O.B., Rounova O.B., Velichko E.V. Recommendations for drafting regulatory documents on immunobiologicals particularly the section on physicochemical quality characteristics. Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin 2015; (3): 8–12.

Для оценки качества, эффективности и безопасности лекарственных средств (ЛС), заявляемых для государственной регистрации, Федеральным законом «Об обращении лекарственных средств» предусмотрена экспертиза материалов регистрационного досье и экспертиза предложенных методов контроля качества лекарственного средства и качества представленных образцов лекарственного средства с использованием этих методов [1].

Экспертиза качества образцов, проводимая в лабораторных условиях (далее — лабораторная экспертиза), являясь самостоятельным этапом оценки качества, эффективности и безопасности лекарственных препаратов, может быть проведена в полной мере только при комплексном анализе всех необходимых материалов регистрационного досье, где основное место отведено проекту нормативной документации (НД). Кроме того, при проведении лабораторной экспертизы в обязательном порядке рассматриваются и анализируются материалы по валидации методов, стандартные операционные процедуры, сертификаты анализа и т.д.

Основные задачи лабораторной экспертизы можно разделить на два основных этапа: оценка адекватности и воспроизводимости методов оценки качества ЛС, приведенных в проекте НД, и оценка соответствия качества образцов ЛС установленным в проекте НД требованиям.

При оценке адекватности метода на основании описания процедуры, приведенной в проекте НД и материалов по валидации, устанавливают его пригодность для оценки конкретного показателя. Такие характеристики метода, как специфичность, правильность и чувствительность, должны быть в полной мере отражены в материалах по валидации. В данном случае опыт многолетней экспертной работы позволяет утверждать, что подобное подтверждение пригодности метода затрагивает не только оригинальные методики фирм, но и фармакопейные методы, носящие общий характер. Так, например, входящие в состав препарата вспомогательные вещества или остаточные количества веществ, применяемых в процессе производства, могут неспецифически влиять на результаты анализа: вызывать более ин-

тенсивное окрашивание (колориметрические методы); влиять на цвет или pH раствора в точке эквивалентности (титриметрические методы); вызывать помутнение раствора, затрудняя проведение спектрофотометрических анализов и качественных реакций, и т.д.

Оценка воспроизводимости — неоднозначная задача, поскольку воспроизводимость можно рассматривать как:

- возможность пошагового повторения методики в точном соответствии с описанием, приведенном в проекте НД;
- степень близости друг к другу независимых результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости [2].

В первом случае необходимо понятное и последовательное изложение методики, предусматривающее все нюансы и особенности воспроизведения. Во втором — наличие достаточных материалов по валидации метода с указанием максимально допустимого значения коэффициента вариации (RSD, %) для сравнения результатов экспертизы с данными значениями [3–5].

Таким образом, правильное изложение методики, обеспечивающее возможность пошагового ее повторения (воспроизведения), является необходимым условием проведения лабораторной экспертизы как на этапе оценки воспроизводимости методики, так и при оценке соответствия качества образцов.

Основные правила составления, изложения и оформления НД отражены в «Руководстве по экспертизе лекарственных средств» [6]. Единообразное изложение методик с сохранением общей схемы изложения для всей НД существенно снижает вероятность упущений и неточностей при ее составлении заявителем, упрощает восприятие текста и позволяет эксперту, при необходимости, более четко формулировать запрос, ссылаясь на соответствующий подраздел, вызвавший затруднения. При необходимости структура раздела может быть изменена: некоторые подразделы могут быть исключены или привнесены, однако общие рекомендации по структуре разделов выглядят следующим образом:

1. Название раздела.
2. Норма содержания определяемого вещества и размерность.
3. Кратко — принцип метода (в большей степени относится к химическим нефармакопейным методам).
4. Ссылка на ГФ, международные фармакопеи, руководящие документы (если применимо).
5. Подраздел «Оборудование», где перечисляется все используемое оборудование. Целесообразно в начале подраздела, при условии, что это действительно возможно, привести фразу «При проведении анализа может быть использовано оборудование, аналогичное указанному». В случае невозможности замены это необходимо отразить дополнительно.
6. Подраздел «Материалы» — перечисляются все используемые материалы с указанием фирмы-производителя и номера по каталогу. Целесообразно в начале подраздела, при условии, что это действительно возможно, привести фразу «При проведении анализа могут быть использованы материалы, аналогичные указанному». В случае невозможности замены это необходимо отразить дополнительно.
7. Подраздел «Реактивы» — перечисляются все используемые реактивы с указанием квалификации, на-

звания фирмы-производителя и номера по каталогу. Целесообразно в начале подраздела, при условии, что это действительно возможно, привести фразу «При проведении анализа могут быть использованы реактивы, аналогичные указанным». В случае невозможности замены это необходимо отразить дополнительно.

8. Подраздел «Стандартные образцы», где перечисляются все используемые стандартные образцы с указанием названия фирмы-производителя и номера по каталогу или, в случае использования стандартного образца производителя — его маркировка, состав и аттестованная характеристика.

9. Подраздел «Растворы» — перечисляются все используемые при проведении анализа растворы (название, концентрация, процедура приготовления).

10. Подраздел «Стандартные растворы» — перечисляются все стандартные растворы, используемые при проведении анализа (это могут быть растворы для построения калибровочного графика, растворы для подтверждения правильности, растворы сравнения) и приводится подробная процедура их приготовления с указанием исходных и рабочих концентраций.

11. Подраздел «Испытуемый раствор (проба)», где приводится описание процедуры пробоподготовки относительно исходной готовой лекарственной формы или формы выпуска субстанции. Допускается ссылка на другой раздел данной НД, если процедура пробоподготовки совпадает.

12. Подраздел «Методика» — приводится подробное, пошаговое описание процедуры методики, с учетом использования всех указанных в предыдущих подразделах оборудования, материалов, растворов реактивов, стандартных и испытуемых растворов.

13. Подраздел «Расчет» — приводится описание и (или) формула расчета определяемого вещества с учетом всех разведений, включая пробоподготовку, и подробной подформульной расшифровкой всех указанных в формуле величин. Размерность получаемой в результате расчетов величины должна совпадать с размерностью, указанной в спецификации и в начале раздела (норма содержания).

14. Подраздел «Критерии пригодности», где приводятся условия и величины, необходимые для признания результатов анализа.

Данная структура справедлива для всех разделов НД, предусматривающих воспроизведение методики. Однако для физико-химических показателей следует затронуть частные моменты описания методик и рассмотреть типичные ошибки их изложения.

Физико-химические показатели качества — название условное, поскольку для их оценки применяют физические, физико-химические, химические, биохимические, иммунохимические и другие методы.

Данные методы весьма разнообразны и, несмотря на необходимость единообразия изложения методик, зачастую требуют индивидуального подхода к каждой из групп.

Такие методы, как определение pH, потеря в массе при высушивании, средняя масса таблеток (суппозиторий), точность розлива лиофилизированных препаратов, прозрачность, цветность, извлекаемый объем, распадаемость таблеток (капсул), механические включения, температура плавления, вязкость, осмоляльность и т.п. в большинстве своем изложены в российской и

международных фармакопеех и, как правило, не требуют подробного описания самой процедуры анализа. Так, например, слишком подробное описание процедуры измерения pH с калиброванием pH-метра, приготовлением стандарт-титров или определения прозрачности и цветности с детальным описанием процедуры и подготовкой эталонных растворов и т.п., является излишним, поскольку дублирует соответствующую фармакопейную статью или инструкцию к оборудованию. Для таких методов достаточно указать границы нормы, привести ссылку на фармакопею и отразить, при необходимости, пробоподготовку (предварительное разведение, центрифугирование и т.д.).

Такие методы как спектрофотометрическое определение белка, определение дисперсности сорбента, спектрофотометрическое определение фенола и 2-феноксиэтанола, определение воды с реактивом Фишера и т.п. обычно не вызывают затруднений, но при их описании необходимо указывать особенности, присущие каждому конкретному препарату: величину коэффициента экстинкции при спектрофотометрическом определении белка; формулу пересчета с учетом предварительного разведения образца; образец, используемый для построения калибровочного графика с подробной процедурой приготовления разведений и т.д.

К химическим методам можно отнести все качественные реакции и методы количественного химического анализа: спектрофотометрические, колориметрические, титриметрические, комплексонометрические, потенциометрические и т.д. С помощью данных методов определяют большинство вспомогательных и примесных веществ: мертиолят, формальдегид, алюминий, углеводы (полисахариды), О-ацетильные группы, глицин, мальтоза, октоксинол-9, ТДТАБ, маннитол, димедол, борную кислоту, риванол, дитиотреитол, натрия тиосульфат, натрия лаурилсульфат, хлоргексидин и т.д. Для данных методов в полной мере справедлива приведенная выше структура изложения раздела.

Биохимические методы (определение белка по Лоури, Несслеру, Биурету, Бредфорду, Кьельдалю; определение нуклеиновых кислот; ВЭЖХ (количественное определение, чистота, подлинность основных и вспомогательных веществ); электрофоретические методы и т.д.) не менее разнообразны, чем методы химические. Частично данные методы изложены в ГФ, что упрощает их описание в НД, однако также имеет свои особенности. Так, например, фармакопейный метод определения белка по Лоури, как правило, требует уточнений, обусловленных составом того или иного препарата. Это может быть описание предварительного разведения образца, описание процедуры осаждения или десорбции (для сорбированных препаратов), указание на использование буферного (или какого-либо другого раствора) в качестве раствора сравнения, описание калибровочного графика и раствор сравнения, отличного от указанного в ГФ, формула расчета содержания белка с учетом вышеуказанных процедур, использование набора реагентов, отличных по составу, концентрации и соотношениям от фармакопейных. В последнем случае (использование набора реагентов) ссылка на ГФ не целесообразна, поскольку при сохранении принципа метода методика его воспроизведения, как правило, отличается от фармакопейной полностью, и метод, указанный в ГФ, может рассматриваться только как альтернативный.

Принцип метода и правила изложения методик на основе ВЭЖХ подробно изложены в Европейской фармакопее, ГФ и «Руководстве по экспертизе лекарственных средств» [6–8]. При описании процедуры анализа необходимо указывать следующее:

- хроматографическую колонку (*производитель, № по каталогу*)

*Пример: Тип колонки — Luna C18*

*Размеры в мм (4,6 x 150 мм)*

*Размер пор в мкм (5 мкм);*

- предколонку (при наличии) — по той же схеме;
- скорость потока (мл/мин);
- температуру колонки (°C);
- температуру образца (°C);
- объем пробы (мкл);
- тип детектора (УФ, рефрактометрический, кондуктометрический, флуоресцентный и т.п.); если УФ — длина волны (нм), если флуоресцентный — длины волн возбуждения и испускания (нм);
- время анализа (мин);
- время выхода основного пика (мин) или относительное время удерживания;
- при градиентном анализе — описание градиента в виде таблицы;
- последовательность проведения хроматографического анализа: количество введений каждого образца и последовательность ввода, при сложной схеме с большим количеством образцов предпочтительно изложение в виде таблицы;
- критерии пригодности хроматографической системы

*Пример: Хроматографическая система считается пригодной, если при пяти последовательных анализах стандартного образца выполняются следующие условия:*

- относительное стандартное отклонение площади пика не более 2%;

- фактор асимметрии пика ---

*Эффективность хроматографической колонки не менее --- теоретических тарелок*

- если анализируются примеси, то добавляется разрешение между пиками.

Иммунохимические методы для оценки физико-химических показателей качества иммунологических лекарственных препаратов на сегодняшний день представлены в основном двумя методами: ракетным иммуноэлектрофорезом и иммуноферментным анализом. Определяемые вещества — гетерологичные примеси белковой природы: бычий сывороточный альбумин, овальбумин, остаточные белки штамма-продуцента. Исключение составляет Ви-антиген — полисахарид клеточной стенки бактерий, целевое вещество брюшнотифозной вакцины, количественно определяемое методом ракетного иммуноэлектрофореза.

Иммуноферментный анализ, наиболее востребованный метод определения белковых примесей, имеет свои особенности описания в зависимости от используемых реагентов: коммерческий набор и реагенты фирмы. В случае использования коммерческих тест-систем описание процедуры анализа можно не приводить, достаточно ссылки на инструкцию по применению, прилагаемую к набору, а информацию соответствующего раздела НД необходимо дополнить следующим:

- названием фирмы-изготовителя тест-системы и номера по каталогу;

- особенностями пробоподготовки (в случае необходимости);
- процедурой интерпретации результатов с учетом пробоподготовки.

В случае использования реагентов фирмы необходимо подробное описание процедуры анализа по типичной схеме. Особое внимание — реагентам фирмы (как правило, это антитела, антитела, конъюгированные с ферментом, и антиген) — для них должны быть прописаны условия хранения. В случае проведения лабораторной экспертизы их необходимо предоставлять наряду с препаратом и стандартными образцами. Описание их получения не приводят.

Многoletний опыт проведения лабораторной экспертизы и экспертизы НД позволил авторам сформулировать типичные, часто встречающиеся ошибки, которые, как показала практика, не зависят от типа препарата и производителя.

#### **Общие замечания к тексту:**

- небрежность перевода с потерей смысла;
- непоследовательность, нелогичность изложения;
- использование аббревиатур и терминов, ранее не описанных в тексте;
- переписывание стандартных операционных процедур;
- значимая ссылка на недоступный или некорректный источник.

#### **Замечания к подразделам «оборудование», «материалы», «реактивы», «растворы»:**

- отсутствие указания на возможность использования альтернативного оборудования, комплектующих, расходных материалов и реактивов;
- использование оборудования (в том числе устаревшего), реактивов, расходных материалов, тест-систем и т.п., закупка которых невозможна;
- отсутствие описания процедур приготовления растворов или ошибки: несоответствие процедуры или размерности заданной концентрации.

#### **Замечания непосредственно к процедуре методики:**

- несовпадение требований к показателю и (или) размерности величин в спецификации и тексте НД; неточности и упущения в деталях: отсутствие описания условий центрифугирования, фильтрации, диализа, пробоподготовки (восстановление лиофилизата, предварительное разведение образца) и т.д.;
- ссылки на СОПы как источник недостающей информации;
- переписывание инструкции к оборудованию;

- разночтения между проектом НД, СОП и материалами по валидации в части процедуры (разные длины волн, разные хроматографические колонки, время анализа, учет результатов и т.д.);

- недостаточно информативные ссылки на Фармакопеи (ссылка на описание принципа метода, а не на конкретную методику);

- подробное описание валидационных процедур в проекте НД при описании рутинных анализов;

- подробное описание самостоятельного приготовления коммерчески доступного реактива.

#### **Замечания к подразделу «стандартные образцы»:**

- описание процедуры изготовления и аттестации стандартного образца предприятия;

- отсутствие характеристик стандартного образца и процедуры его приготовления для анализа (пробоподготовка);

- отсутствие процедуры учета результатов использования стандартного образца;

- отсутствие единообразия в названии стандартного образца в рамках одного раздела.

#### **Замечания к подразделу «Расчеты и учет результатов»:**

- отсутствие раздела «Учет результатов»;

- несовпадение размерности величин в требовании к показателю в начале раздела и формуле расчета;

- ошибки в формуле расчета результатов или некорректное описание (или его отсутствие) величин, входящих в формулу расчета;

- несовпадение рабочего диапазона калибровочного графика с определяемой величиной.

В заключение следует обратить внимание, что в задачи эксперта входит воспроизведение методики в точном соответствии с ее описанием. В связи с этим НД следует рассматривать как универсальный сборник методик, позволяющий оценить качество препарата не только на предприятии-изготовителе, но и в любой аккредитованной соответствующим образом лаборатории. Таким образом, как недостаток информации (упущения в деталях, небрежное изложение и т.п.), так и ее переизбыток (чрезмерная конкретизация процедур, ориентированная на условия производственных лабораторий и лабораторий ОКК) в одинаковой мере мешают воспроизведению методики.

Коллектив авторов надеется, что настоящие рекомендации будут способствовать лучшему пониманию требований экспертной организации к изложению НД на иммунобиологические лекарственные препараты в части физико-химических показателей качества и будут полезны при формировании других материалов регистрационного досье.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Федеральный закон № 61-ФЗ от 12 апреля 2010 г. «Об обращении лекарственных средств».
2. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения, М., Госстандарт России, С. 24.
3. ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий».
4. Guideline PA/PH/OMCL (13) 113 R Evaluation and reporting of results.
5. МИ 2881-2004 Рекомендация. ГСОЕИ. «Методики количественного химического анализа. Процедуры проверки приемлемости результатов анализа».
6. Миронов АН, ред. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том II. М.: Гриф и К, 2013. 280 с.

## **REFERENCES**

1. Federal'nyj zakon № 61-FZ ot 12 aprlja 2010 g. «Ob obrashhenii lekarstvennyh sredstv» (in Russian).
2. State Standard GOST R ISO 5725-1-2002. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 1: Basic terms and definitions. Moscow: Gosstandart Rossii; 2002. P. 24 (in Russian).
3. State Standard GOST ISO/IEC 17025-2009. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Moscow: Gosstandart Rossii; 2009 (in Russian).
4. Guideline PA/PH/OMCL (13) 113 R Evaluation and reporting of results.
5. MI 2881-2004 Rekomendacija. GSOEI. The techniques of quantitative chemical analysis. Procedures for verifying the acceptability of the results of the analysis. Moscow; 2004 (in Russian).
6. Mironov AN, ed. Manual on expertise of medicines. V. II. Moscow: Grif i K; 2013. 280 p. (in Russian).



7. Государственная фармакопея Российской Федерации. 12-е изд. Ч. 1. М.: НЦЭСМП; 2008.
8. European Pharmacopoeia 8.1 04/2014, 2.2.29 Liquid chromatography, 2.2.30 Size-exclusion chromatography, 2.2.46 Chromatographic separation techniques.

#### ОБ АВТОРАХ:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.  
 Устинникова Ольга Борисовна. Начальник лаборатории биохимии МИБП Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.  
 Рунова Ольга Борисовна. Ведущий эксперт лаборатории биохимии МИБП Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. хим. наук.  
 Величко Елена Викторовна. Главный технолог Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. тех. наук.

7. The State Pharmacopoeia of Russian Federation, 12th ed., V. 1. Moscow: Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2008 (in Russian).
8. European Pharmacopoeia 8.1 04/2014, 2.2.29 Liquid chromatography, 2.2.30 Size-exclusion chromatography, 2.2.46 Chromatographic separation techniques.

#### AUTHORS:

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.  
 Ustinnikova OB. Head of Laboratory of Biochemistry of medical immunobiological preparations of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Biological Sciences.  
 Runova OB. Leading expert of Laboratory of Biochemistry of medical immunobiological preparations of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Chemical Sciences.  
 Velichko EV. Senior technologist of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Technical Sciences.

#### АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ:

Устинникова Ольга Борисовна; Ustinnikova@expmed.ru

Статья поступила 10.08.2015 г.

Принята к печати 17.08.2015 г.

## ПОДПИСНАЯ КАМПАНИЯ НА ПЕРВОЕ ПОЛУГОДИЕ 2016 ГОДА



Оформить подписку на журнал  
**«ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ  
 МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ»**

можно в любом почтовом отделении России.

Индекс издания в каталоге Агентства

«Роспечать» «Газеты. Журналы»

на первое полугодие 2016 года – **25122**